动 物 学 研 究 1996，17（3）：337—340 CN 53-1040／Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

硬骨鱼类体细胞核移植的研究

林礼堂 夏仕玲 朱新平
（中国水产科学研究院珠江水产研究所 广州 510380）

摘要 本文用不同属、科、目的硬骨鱼类作材料进行体细胞核移植研究。鲫鱼(*Carassius auratus*)、鲮鱼(*Cirrhinus molitorella*)和尼罗罗非鲫(*Tilapia nilotica*)的体细胞核（头肾细胞）移植到鲤鱼(*Cyprinus carpio*)的成熟去核卵中，通过继代核移植，在鲫鱼体细胞核和鲤鱼去核卵的属间组合中，获得发育到血液循环期的幼鱼；在鲮鱼体细胞核和鲤鱼去核卵的亚科间组合中，获得发育到心脏跳动期的晚期胚胎；在尼罗非鲫体细胞核和鲤鱼去核卵的目间组合中，获得发育到肌肉效应期的胚胎。由于是直接用成鱼体细胞核作供核体进行核移植，因而能够克服供体鱼和受体鱼不同步产卵的困难。实验结果表明，这对进行硬骨鱼类核质杂交研究无疑是一种简便而又有效的方法。

关键词 硬骨鱼类，体细胞，细胞核移植

前人用细胞核移植的方法，已经获得属间或亚科间的远缘无性杂交鱼（中国科学院动物研究所细胞遗传研究组等，1980；严绍颐等，1984，1985）。这种核质间的远缘无性杂交有着有性杂交所无的优点，即后代可育和性状不分离。这两点在遗传育种上是极其重要的。核质无性杂交又有类似于有性杂交中出现的一些性状优势可供利用。这一点在生产上具有经济意义。由于核质无性杂交具有有性杂交的优点而又能克服有性杂交的缺点，所以细胞核移植已成为鱼类育种的一种重要方法。

童第周等（1963）建立了鱼类细胞核移植方法，为鱼类远缘无性杂交开辟了新途径。然而，这种方法也有其局限性。这是因为在进行细胞核移植操作中，供核体是一种鱼的早期胚胎细胞核，受核体是另一种鱼的成熟卵，这样就势必要求供体鱼和受体鱼两者应同步成熟，同期产卵才能进行核移植。这样便产生了选择供体细胞核和受体卵匹配组合的困难。为了寻求更加方便的供核体来源，我们以一种鱼的体细胞核作为供核体，以另一种鱼的去核卵作为受核体的核移植试验。现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

各种试验鱼均取自本所池塘。实验中以鲤鱼的成熟去核卵作为受体，以其他鱼类的体细胞核作为供体。具体方法是在鲤鱼繁殖季节，人工催产鲤鱼，获成熟卵子。人工去膜，挑去雌核成为去核卵并置于郝氏培养液中待用。与此同时，解剖供体鱼，取出头肾组织放在缺钙的郝氏液中。待头肾组织块周围游离出细胞时，用小吸管吸取游离细胞并置于去核卵旁，然后按童第周的方法（1963）进行第1次核移植。待核移植后的卵发育到囊胚期

本文1995年3月36日收到，同年12月29日修回

时、分离出囊胚细胞，再次移植到去核卵内，即继代核移植。观察并记录两次核移植后卵子的胚胎发育情况。

2 结果与讨论

用鲤鱼(*Cyprinus carpio*)的成熟去核卵作为受核体，把不同属的鲫鱼、不同亚科的鲮鱼(*Cirrhinus molitorella*)和不同目的尼罗非鲫(*Tilapoa nilotica*)的成体头肾体细胞分别移植到去核卵内，结果均能使受体卵发生正常分裂，并发育到原肠胚期。继代核移植则能使胚胎发育至较晚时期，具体结果见表 1、表 2 和表 3。

表 1 鲫鱼肾细胞核与鲤鱼去核卵配合的移核卵的数量及存活率

Tab.1 Survival percentages at each developmental stage of nuclear transplanted eggs of kidney cell nucleus of crucian (*C. auratus*) and enucleated eggs of carp (*C. carpio*)

移核方式及移核卵数	发育时期				
	囊胚期	原肠期	肌动期	心跳期	血液循环期
原代核移植 140	67 47.9%	4 2.86%	0		
继代核移植 193	128 66.3%	9 4.66%	1 0.52%	1 0.52%	1 0.52%

表 2 鲮鱼肾细胞核与鲤鱼去核卵配合的移核卵的数量及存活率

Tab.2 Survival percentages at each developmental stage of nuclear transplanted eggs of kidney cell nucleus of mud carp (*C. molitorella*) and enucleated eggs of carp (*C. carpio*)

移核方式及移核卵数	发育时期				
	囊胚期	原肠期	肌动期	心跳期	血液循环期
原代核移植 150	71 47.3%	8 5.33%	0		
继代核移植 108	54 50.0%	11 10.2%	1 0.93%	1 0.93%	0

表 3 尼罗非鲫肾细胞核与鲤鱼去核卵配合的移核卵的数量及存活率

Tab.3 Survival percentages at each developmental stage of nuclear transplanted eggs of kidney cell nucleus of mouth breeder (*T. nilotica*) and enucleated eggs of carp (*C. carpio*)

移核方式及移核卵数	发育时期				
	囊胚期	原肠期	肌动期	心跳期	血液循环期
原代核移植 589	254 43.1%	3 0.51%	0		
继代核移植 380	212 55.8%	11 2.89%	1 0.26%	0	0

表 1 所显示的是鲫鱼头肾体细胞和鲤鱼卵核质杂交的结果。原代操作中，卵发育到原肠胚期，继代操作中，卵可发育到血液循环期，存活 224 h。表 2 所示是鲮鱼头肾体细胞核和鲤鱼卵核质杂交的结果。原代操作中，卵发育到原肠胚期，继代操作中，卵可发育到心跳期，存活 75 h。表 3 所示是尼罗非鲫头肾体细胞核和鲤鱼卵核移植的结果。原代操作中，卵发育到神经胚期，继代操作中，卵可发育到肌肉扭动期，存活 61 h。

作为对照，留取一部分鲤鱼成熟去核卵，不作任何处理，培养条件和移核卵相同。这

种去核卵一直不发生分裂，最后自行瓦解。

从实验中可以观察到，鲤鱼的成熟卵一经与水接触，就出现一系列象朱洗等（1960）所描述的激动现象。这时的卵子，已做好分裂发育的准备。若把雌核去掉，卵子就不能分裂，最后自行瓦解。若是在这种已有分裂准备而无分裂行动的去核卵中，及时地移植一个外来的细胞核进去，就可以促使该卵进行分裂并进入胚胎发育（童第周等，1963）。本实验结果显示，这种外来细胞核也可以用高度分化了的成体体细胞核。用胚胎细胞的核作供体的核移植，已获得鲤鲫移核鱼（中国科学院动物研究所细胞遗传研究组等，1980），鲫鲤移核鱼（严绍颐等，1984）和草团移核鱼（严绍颐等，1985）。这说明在鲤科鱼类中，一种鱼的胚胎细胞核在属间或亚科间异种卵细胞质内具有重新发育成完整个体的全能性。陈宏溪等（1986）用鲫鱼体外短期培养的体细胞核移植到同种鱼的成熟去核卵内，得到了性成熟的个体，证明了经体外培养的鲫鱼体细胞核也有重新发育成个体的全能性。我们用成体体细胞核作供体，也获得达血液循环期的鲫鲤移核鱼幼鱼，而鲮鲤配合的达心跳期，尼罗非鲫鲤配合的达肌肉扭动期。这说明高度分化的体细胞核在成熟卵细胞质的激活下，也可以发生分裂，导致卵进入胚胎发育。经过继代核移植，也即体细胞核受到卵细胞质的再次活化，使胚胎发育能维持更长时间，这说明此时的体细胞核仍具有相当大的发育潜能。成熟卵细胞质对外来核，不论亲缘关系远近，均有活化作用，引起体细胞核分裂，从而导致卵裂进入胚胎发育。核质亲缘关系近的，胚胎发育较顺利，亲缘关系远的则差（Yan 等，1990），本实验结果证实了这一点，可能与核质相容性有关。亲缘关系近，核质相容性大，核质之间的矛盾容易调整，杂种胚胎的发育就较顺利。反之，核质之间矛盾大，不易调整，杂种胚胎的发育就困难，常中途夭折。

用体细胞核进行原代核移植，其效果一般都比较差，通常只能发育到囊胚期或原肠期，且各期的得率都较低。这可能因为成体细胞是高度分化的细胞，一般都处于不分离或分裂不活跃的状态，它们在去核卵细胞质内被激活分裂，不易与分裂旺盛的卵细胞质相匹配，也就是说细胞核和细胞质的周期不匹配，故核移植的效果较差。经过继代核移植，效果就显然不同。这是因为体细胞核经过多次活化的结果。吴尚勤（1980）也曾认为在连续核移植中，细胞质对核的影响有累积作用。

综上所述，不难看出，在硬骨鱼类中，用体细胞核代替囊胚细胞核进行核质杂交是可行的，如组合恰当，移核卵有可能发育成完整个体。由于直接采用成体体细胞核作供体，就可以避免供体鱼和受体鱼必需同时产卵的矛盾。用这种方法可以扩大核移植的研究对象，增加核质杂交组合的范围。在硬骨鱼类中，进行核质杂交有不受亲缘关系严格限制的趋势，远至目间的两种鱼仍可以进行核移植，这一点与两栖类有明显的不同（Yan 等，1990，1986）。作者在 1985 年与中国科学院发育生物学研究所合作就曾经用莫桑比克罗非鱼的囊胚细胞核与鲤鱼去核卵配合进行核移植，获得一尾发育完整的杂种鱼，已达游动期，有鳔，口已开，存活了 8 天。

参 考 文 献

中国科学院动物研究所细胞遗传研究组、中国科学院水生生物研究所体细胞遗传研究组、水产总局长江水产研究所细胞核移植研究组，1980．硬骨鱼类的细胞核移植——鲤鱼细胞核和鲫鱼细胞质配合的杂种鱼．中国科学，(4)：

377—380.

朱洗，陈兆熙，王幽兰，1960．金鱼和鳊鱼卵球受精的细胞学研究．实验生物学报，7(1)：29—46

严绍颐，陆德裕，杜森等，1984．硬骨鱼类的细胞核移植——鲫鱼细胞核和鲤鱼细胞质配合的杂种鱼．中国科学（B辑），(8)：729—732.

严绍颐，陆德裕，杜森等，1985 硬骨鱼类的细胞核移植——不同亚科间的细胞核移植——由草鱼细胞核和团鲂细胞质配合而成的核质杂种鱼．生物工程学报，1(4)：15—26

陈宏溪，易泳兰，陈敏容等，1986．鱼类培养细胞核发育潜能的研究．水生生物学报，10(1)：1—6.

吴尚勤，1980 不同金鱼品系间的细胞核移植．实验生物学报，13(1)：65—74.

童第周，吴尚勤，叶毓芬等，1963．鱼类细胞核的移植．科学通报，(7)：60—61.

Tan S Y, Tu M, Yang H Y *et al*, 1990. Developmental incompatibility between cell nucleus and cytoplasm as reverled by nuclear transplantation experiments in eleost of different families and orders. *Int. J. Dev. Biol.* **34**: 255-265.

Yan S Y, 1986. The nucleo-cytoplasmic interastions as revealed by nuclear transplantation in fish. In: George M. Malacinski (ed). Cytoplasmic Organization System. New York: Mc Graw-Hill Pub. Co. 61-84.

STUDIES ON NUCLEAR TRANSPLANTATION OF SOMATIC CELLS IN TELEOST

Lin Litang Xia Shiling Zhu Xinping

(*Pearl River Fisheries Research Institute, Academy of Fishery Sciences of China, Guangzhou* 510380)

Abstract

Nuclei of kidney cells of telecost from different genuses, families and orders were used as materials for nuclear transplantation experiments. The somatic cell nuclei (kidney cell) of crucian (*Carassius auratus*), mud carp (*Cirrhinus molitorella*) and mouth breeder (*Tilapia nilotica*) were transplanted into the enucleated egg cytoplasm of carp (*Cyprinus carpio*). By means of the serial nuclear transplantation, a nucleocytoplasmic hybrid (NCH) embryo developing into blood circulation stage was obtained in intergenus combination (nucleus of crucian and enucleated egg cytoplasm of carp), a NCH embryo of heart beat stage was obtained in interfamily combination (nucleus of mud carp and enucleated egg cytoplasm of carp), and a NCH embryo of muscular contraction stage was obtained in inter-order combination (nucleus of mouth breeder and enucleated egg cytoplasm of carp). Since these nuclei were taken directly from the living somatic cells of several kinds of fish and then transplanted them into the enucleated eggs of other fish, it was unnecessary, for obtaining synchronization of spawing periods between the donor fish and the recipient fish. The results obtained in this experiment indicated that this method might be useful for making nucleocytoplasmic hybrids in telecost.

Key words Teleost, Somatic cell, Nuclear transplantation